Cliquetez pour Sommaire des Guides Français

GUIDE D'UTILISATION

SONIFICATEUR HAUTE INTENSITE
SERIE AUTOTUNE
AVEC PULSEUR MANUEL

PILOTÉ PAR MICROPROCESSEUR
Modèle 130 watts

Référence 75185

SOMMAIRE

Le sonificateur livré avec ce manuel d'instructions est fabriqué avec les meilleurs matériaux et la transformation répond aux normes de fabrication les plus élevées. Il a été soigneusement testé et inspecté avant de quitter l'usine et il assurera à l'utilisateur de nombreuses années de fonctionnement fiable et en toute sécurité s'il est utilisé en respectant les procédures décrites dans ce manuel.

Rev. April 2004

GARANTIE

Notre sonificateur est garanti par le fabricant pour une période de **trois ans** à partir de la date d'expédition contre tout défaut de matériel et vice de fabrication pour une utilisation normale telle que décrite dans ce manuel d'instructions. Pendant la période de garantie, le fabricant réparera ou remplacera sans frais de pièce ni de main d'œuvre, à son choix, et comme unique recours, la (les) pièce(s) déclarée(s) défectueuse(s), à condition que l'appareil nous soit renvoyé correctement emballé tous frais de port payés.

Les sondes ultrasoniques sont garanties contre tout défaut pendant une période de un an à partir de la date d'expédition. Une sonde défectueuse sera remplacée gratuitement en cas de défaillance pendant la période de garantie. L'usure résultant de l'érosion par cavitation est une conséquence normale du traitement ultrasonique et n'est pas couverte par cette garantie.

Le fabricant n'assume ni n'autorise personne à assumer pour lui aucune autre obligation ou responsabilité en relation avec la vente de ce produit. Le fabricant rejette par la présente toute garantie de marchandisage ou d'aptitude à un but particulier. Aucune personne ni entreprise n'est autorisée à changer, modifier ou amender les termes de cette garantie de quelque façon que ce soit. Le fabricant n'est en aucun cas responsable vis à vis du distributeur ou d'aucune autre personne pour tout dommage direct ou indirect ou perte de clientèle, production ou profit résultant de tout dysfonctionnement ou défaillance de ce produit.

Cette garantie ne s'applique pas à un équipement ayant subi une réparation non autorisée, à une utilisation incorrecte ou abusive, une négligence ou un accident. Un équipement qui montre des signes d'utilisation en violation des instructions d'utilisation, ou dont le numéro de série est altéré ou retiré, ne pourra pas bénéficier d'une réparation sous garantie.

Toutes les sondes sont fabriquées conformément aux caractéristiques exactes et sont ajustées pour résonner à une certaine fréquence. L'utilisation d'une sonde non ajustée peut endommager l'équipement et peut annuler la garantie. Le fabricant n'accepte aucune responsabilité pour les sondes fabriquées par un tiers ni pour les dommages consécutifs résultant de leur usage.

Les dispositions susmentionnées ne rallongent pas la période de garantie originale d'un produit ayant été réparé ou remplacé par le fabricant.

MESURES DE SECURITE IMPORTANTES

LIRE ATTENTIVEMENT AVANT D'INSTALLER OU DE FAIRE FONCTIONNER CET APPAREIL.

Ce processeur ultrasonique a été conçu pour assurer un maximum de sécurité à l'utilisateur. Cependant, aucune conception ne peut assurer une protection totale en cas de mauvaise utilisation qui peut entraîner des blessures corporelles et/ou des dommages matériels. Pour la protection de l'utilisateur et de l'appareil, respecter les avertissements suivants à tout moment, lire attentivement les instructions de fonctionnement avant de tenter de faire fonctionner l'appareil, et conserver ce manuel d'instructions pour le consulter plus tard. Si le sonificateur est utilisé d'une manière contraire à celle précisée dans ce manuel d'instructions, les protections conçues dans l'appareil peuvent être altérées.

- Pour le montage de la sonde, toujours fixer le capot du convertisseur. Ne jamais fixer la sonde.
- Vérifier que le sonificateur est correctement relié à la terre avec une fiche à 3 broches.
- Une haute tension est présente au niveau de l'alimentation. Le capot ne doit être retiré que par un réparateur qualifié.
- Pour éviter les chocs électriques, débrancher le cordon d'alimentation avant de retirer le capot pour effectuer une réparation.
- Ne jamais faire fonctionner le générateur s'il n'est pas connecté au convertisseur.
- Ne rien fixer sur la sonde, sauf au point nodal (point de non activité).
- Ne jamais toucher une sonde vibrante.
- Ne jamais laisser une microsonde vibrer à l'air libre pendant plus de 10 secondes
- Ne jamais faire fonctionner une sonde à extrémité filetée sans embout interchangeable.
- Refroidir le convertisseur avec de l'air lorsque la température de l'échantillon dépasse 100°C, et pour une utilisation à haute intensité pendant plus de 30 minutes.
- Nous conseillons l'utilisation d'une cabine anti-bruit ou d'un casque anti-bruit pendant le fonctionnement du sonificateur.



AVERTISSEMENT ou ATTENTION
En présence de ce symbole d'alerte et des mots AVERTISSSEMENT ou ATTENTION, suivre rigoureusement les instructions de mise en garde pour éviter de se blesser ou d'endommager l'équipement.



ATTENTION

LIQUIDES A FAIBLE TENSION DE SURFACE – SOLVANTS ORGANIQUES

Les sondes (à embout fixe ou amovible) sont ajustées pour résonner à une certaine fréquence. En cas d'utilisation d'une sonde de ½" (13 mm) à embout amovible, si la pointe amovible est retirée ou isolée du reste de la sonde, l'élément ne résonnera plus à cette fréquence et l'alimentation sera défaillante.
Contrairement aux solutions aqueuses (à base d'eau), qui posent rarement problème, les échantillons contenant des solvants ou des liquides à faible tension de surface sont problématiques. Ces liquides pénètrent dans l'espace entre la sonde et l'embout amovible, et amènent les particules dans la partie filetée, isolant la pointe de la sonde.
TOUJOURS utiliser une sonde à embout fixe pour traiter des échantillons contenant des solvants ou des liquides à faible tension de surface.

CHAPITRE 1 – INSTALLATION

INSPECTION

Avant d'installer le sonificateur, inspecter visuellement le colis et relever toute trace de dommage qui aurait pu survenir pendant le transport. Avant de jeter l'emballage, vérifier soigneusement qu'il ne contient pas de petites pièces.

Le processeur ultrasonique a été soigneusement emballé et inspecté avant de quitter notre usine. La responsabilité de sa livraison en bon état est assumée par le transporteur du fait de l'acceptation du transport. Les réclamations pour perte ou dommage consécutifs au transport doivent de ce fait être adressées au transporteur.

En cas de dommage, contacter le transporteur dans les 48 heures à compter de la date de livraison. NE PAS FAIRE FONCTIONNER UN APPAREIL ENDOMMAGE. Conserver tous les matériaux d'emballage pour une future expédition.

ALIMENTATION ELECTRIQUE

Le processeur ultrasonique nécessite une prise de courant monophasé à 3 broches reliée à la terre équipée d'un fusible capable de délivrer 50/60 Hz à 100 volts, 115 volts, 220 volts ou 240 volts, suivant l'option de tension choisie. Pour les exigences électriques, se référer à l'étiquette à l'arrière de l'appareil.
S'il est nécessaire de convertir l'appareil pour adapter son fonctionnement à d'autres tensions, procéder de la façon suivante.

1. Déconnecter le cordon d'alimentation de la prise.
2. Ouvrir le support de fusibles en utilisant un petit tournevis plat.
3. Retirer le support de fusibles rouge de son logement.
4. Pour passer de 100/115 V à 220/240 V, remplacer les deux fusibles à action lente de 3 A par des fusibles de 1,6 A.
5. Pour passer de 220/240 V à 100/115 V, inverser la procédure ci-dessus.
6. Tourner le support de fusibles de 180º par rapport à sa position d'origine, et le réinsérer dans son logement. Pour un fonctionnement en 100/115 V, la tension affichée doit être 115. Pour un fonctionnement en 220/240 V, la tension affichée doit être 220.
7. Changer le cordon d'alimentation si nécessaire.



AVERTISSEMENT

Pour la sécurité de l'utilisateur, ne jamais, en aucun cas, défaire la mise à la terre du cordon d'alimentation en retirant la broche de terre.



INSTALLATION DE L'HOMOGENEISEUR A ULTRASONS

Installer le sonificateur dans un endroit à l'abri d'un excès de poussière, de saleté, de vapeurs explosives et corrosives, et des conditions extrêmes de température et d'humidité.

CHAPITRE II – FONCTIONNEMENT

PRINCIPES DE LA DESINTEGRATION ULTRASONIQUE

Le générateur ultrasonique convertit la tension du secteur 50/60 Hz en énergie électrique de haute fréquence. Cette énergie électrique de haute fréquence est transmise à un transducteur piézo-électrique dans le convertisseur, où elle est changée en vibrations mécaniques. Les vibrations du convertisseur sont intensifiées par la sonde, créant des ondes de compression dans le liquide. Cette action génère des millions de bulles microscopiques (cavités) qui se propagent pendant la phase de pression négative, et qui implosent violemment pendant la phase de pression positive. Lorsque les bulles implosent, elle provoquent des millions d'ondes de choc et de remous qui irradient vers l'extérieur du site de dépression, ainsi que des pressions et des températures extrêmes sur les sites d'implosion. Bien que ce phénomène, connu sous le nom de cavitation, ne dure que quelques microsecondes, et que la quantité d'énergie dégagée par chaque bulle individuelle soit minime, le cumul d'énergie dissipée est extrêmement élevé. Plus la pointe de sonde est grande, plus le volume pouvant être traité sera important, mais à une intensité plus faible. Pour des informations concernant la capacité de traitement de chaque sonde, consulter les tableaux ci-dessous.

REMARQUE

Le processeur ultrasonic est disponible avec cinq sondes – une microsonde de 2 mm ($^{5}/_{64}$”), une microsonde de 3 mm ($^{1}/_{8}$”), une microsonde de 6 mm ($^{1}/_{4}$”), une sonde de 13 mm ($^{1}/_{2}$”) et une sonde de 13 mm (½”) à embout amovible.

- La microsonde de 2 mm est optionnelle, et peut traiter entre 150 microlitres et 5 millilitres.
- La microsonde de 3 mm est standard, et peut traiter entre 250 microlitres et 10 millilitres.
- La microsonde de 6 mm est optionelle, et peut traiter entre 10 et 25 millilitres.
- La sonde de 13 mm est optionnelle, disponible à embout fixe ou amovible, et peut traiter entre 50 et 150 millilitres.

FONCTIONS DES TOUCHES, COMMANDES, INDICATEURS ET CONNECTEURS

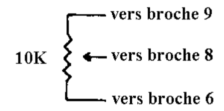
PANNEAU FRONTAL	
Ecran LCD	**Affiche les messages et les paramètres de contrôle suivants :** • Amplitude sélectionnée • Puissance de sortie délivrée à la sonde en watts, et en pourcentage de la puissance totale de 130 watts. • Quantité d'énergie accumulée en joules délivrée par la sonde.
Touche CLEAR	(effacer) Efface la saisie précédente.
Touche ENTER REVIEW	(entrer/visualiser) Utilisée pour saisir l'amplitude sélectionnée et visualiser l'amplitude, la puissance et l'énergie.
Touche START/STOP	(démarrer/arrêter) Démarre ou arrête les ultrasons. En mode STOP, l'indicateur rouge s'éteint.
Touche |	Met l'appareil sous tension.
Touche O	Met l'appareil hors tension.
AMPL	Contrôle l'amplitude des vibrations à la pointe de la sonde.
Touche ▲ ▼	Utilisée avec la touche AMPL lorsque l'appareil est en attente pour régler l'amplitude des vibrations à la pointe de la sonde. Egalement utilisée pour augmenter ou diminuer l'amplitude par petits incréments pendant le fonctionnement de l'appareil. Pour cela, appuyer sur la touche AMPL pour afficher AMPLITUDE CONTROL (contrôle de l'amplitude), puis appuyer sur la touche ▲ ou ▼ selon le cas.

FONCTIONS DES TOUCHES, COMMANDES, INDICATEURS ET CONNECTEURS (suite)

PANNEAU ARRIERE	
Sous connecteur D à 9 broches	Se connecte au dispositif de commande externe, et permet l'activation et le contrôle de la fréquence.
Jack pour pédale	Se connecte au câble de la pédale.
Connecteur coaxial	Se connecte au convertisseur.
Module d'alimentation	Se connecte au cordon d'alimentation électrique et abrite le(s) fusible(s).

SOUS CONNECTEUR D A 9 BROCHES

N° de broche	**Description**
1	Non connectée
2	Non connectée
3	Non connectée
4	Permet une connexion à un compteur de fréquence.
5	Permet une connexion à un contrôleur de puissance externe (5 mV = 1 watt)
6	Terre
7	Excite les ultrasons quand connecté à la terre.
8 et 9	Permet de régler l'intensité à distance à l'aide d'un potentiomètre 10k externe. *Voir ci-dessous.*



REMARQUE

Pour modifier à distance l'intensité à l'aide de 0 – 5 volts à la place d'un potentiomètre 10 K, connecter le positif sur la broche 8 et le négatif sur la broche 6.

PREPARATION AVANT UTILISATION

> **ATTENTION**
> Si le sonificateur a été laissé dans un environnement très froid ou très chaud pendant une période prolongée, ne pas le faire fonctionner avant qu'il ait atteint la température de la pièce.

1. Brancher le cordon d'alimentation dans la prise de courant ; si l'appareil est déjà sur marche, appuyer sur la touche O .
2. Si la pédale optionnelle est utilisée, insérer la fiche de la pédale dans la prise jack située sur le panneau arrière. S'assurer que la fiche est entièrement et fermement insérée.
3. Si le montage convertisseur / sonde n'est pas encore assemblé, utiliser les clés fournies, visser **correctement** la sonde sur le convertisseur.

> **ATTENTION**
> Ne jamais insérer de rondelle entre la sonde et le convertisseur.
> Ne jamais appliquer de graisse sur les surfaces d'accouplement ou filetages du convertisseur, de la sonde, de la pointe amovible ou de la microsonde.

4. Installer le montage convertisseur / sonde sur un statif. Fixer la pince uniquement sur la partie supérieure du capot du convertisseur. **Ne pas fixer la pince sur la sonde.**
5. Connecter le câble du convertisseur à l'alimentation électrique.

> **REMARQUE**
> Pour retirer une sonde, utiliser les clés à ergots fournies. Si la sonde est fixée sur le convertisseur depuis longtemps, il peut être nécessaire d'utiliser un étau. S'assurer que l'étau est équipé de mâchoires tendres ou d'un autre système pour éviter les rayures. Fixer la partie de la sonde présentant le plus grand diamètre dans les mâchoires de l'étau. Ne jamais serrer le convertisseur dans l'étau. A l'aide d'une clé à ergots, tourner le convertisseur pour le séparer de la sonde. Il est possible d'utiliser un marteau sur l'extrémité de la clé. Ne jamais essayer de retirer la sonde en tournant le logement du convertisseur, car cela peut endommager les connexions électriques à l'intérieur du logement.

UTILISATION DU SONIFICATEUR

Un régulateur de vitesse sur une automobile peut, dans une certaine mesure, être comparé à un sonificateur. Le régulateur est conçu pour maintenir le véhicule à une vitesse constante. Lorsque le terrain change, les besoins de puissance changent également. Le régulateur de vitesse détecte ces besoins, et ajuste automatiquement la quantité de puissance délivrée par le moteur, pour compenser ces conditions sans cesse changeantes. Plus l'inclinaison est importante, plus la résistance du véhicule au mouvement augmente, et plus importante sera la puissance délivrée par le moteur pour compenser cette résistance.

Le processeur ultrasonique est conçu pour délivrer une amplitude constante. Lorsque la résistance au mouvement de la sonde augmente, l'alimentation électrique délivre plus de puissance afin de maintenir constante le déplacement de la sonde. L'utilisation d'une alimentation plus puissante ne délivrera pas plus de puissance au liquide. C'est plutôt la résistance au mouvement de la sonde qui détermine la puissance à délivrer à l'échantillon.

La commande d'AMPLITUDE permet de régler les vibrations ultrasoniques à la pointe de la sonde sur le niveau désiré. Bien que le degré de cavitation nécessaire pour traiter l'échantillon puisse aisément être déterminé à l'œil nu, la quantité de courant nécessaire ne peut pas être prédéterminée. Un réseau sensible contrôle en continu les exigences de sortie, et ajuste automatiquement la puissance pour maintenir l'amplitude sur le niveau présélectionné. Plus la résistance au mouvement de la sonde due à une forte viscosité est importante, plus la sonde est immergée profondément dans l'échantillon, plus la diamètre de la sonde est élevé, ou plus la pression est élevée, plus la quantité de courant délivré à la sonde sera importante. Le réglage de la commande d'AMPLITUDE entièrement dans le sens horaire n'entraînera pas la distribution de la puissance maximale à l'échantillon. La puissance maximale (100 ou 130 watts) que le processeur ultrasonique est capable de délivrer sera uniquement délivrée lorsque la résistance au mouvement de la sonde est suffisamment élevée pour soutirer la quantité de watt maximale.

Ce phénomène peut être démontré de la façon suivante. Appuyer la sonde contre un morceau de bois. Plus la pression exercée vers le bas est importante, et par conséquent plus la résistance au mouvement de la sonde est élevée, plus la quantité de courant délivrée par l'alimentation électrique est importante.

ATTENTION

- Ne pas faire fonctionner le générateur sans l'avoir connecté au convertisseur.
- Ne jamais laisser de liquide couler dans le convertisseur. Ne pas utiliser la chambre Cup-Horn sans protection anti-projections.
- Ne jamais laisser une microsonde vibrer à l'air libre pendant plus de 10 secondes.
- Ne pas laisser une microsonde vibrante entrer en contact avec autre chose que l'échantillon.
- Pour le traitement d'échantillons contenant des solvants ou des liquides à faible tension de surface, ne pas utiliser de sonde avec pointe amovible.
- Ne jamais délivrer d'énergie à une sonde filetée n'étant pas équipée d'un embout amovible.

REMARQUE

Se référer au chapitre IV pour des conseils d'utilisation et des techniques de traitement ultrasonique.

Appuyer sur la touche | . L'écran affiche la puissance du sonificateur, et AMPL.

Ampl -- %

AMPLITUDE : L'utilisateur doit régler l'amplitude pour permettre au sonificateur de fonctionner. AMPL. affiche l'amplitude choisie, par exemple 40%. Pour régler l'amplitude lorsque les ultrasons sont coupés, appuyer sur la touche AMPL et sur les touches ▲ ou ▼ pour afficher 40% à l'écran, puis appuyer sur la touche ENTER/REVIEW (entrer/visualiser).

L'écran indique :

Ampl 40 %

Le sonificateur est maintenant prêt pour une utilisation en continu. Pour activer les ultrasons, appuyer sur la touche START (démarrer) ou sur la pédale. Pour arrêter les ultrasons, appuyer sur la touche STOP ou relâcher la pédale.
Pour augmenter ou diminuer l'amplitude par petits incréments lorsque les ultrasons sont en cours, appuyer sur la touche AMPL pour afficher AMPLITUDE control (contrôle de l'amplitude) à l'écran, puis appuyer sur la touche ▲ ou ▼ , selon le cas.

REMARQUE

Pour effacer une mauvaise saisie, appuyer sur la touche CLEAR (effacer).

REMARQUE

La touche START et la pédale sont mutuellement exclusives. Si le traitement est démarré avec la touche START, la pédale devient inopérante. Si la sonification est démarrée à l'aide de la pédale, la touche STOP devient inopérante.

REMARQUE

La sonde est syntonisée pour vibrer à une fréquence spécifique. Si la fréquence de résonance de la sonde a changé, du fait de l'érosion par cavitation ou d'une rupture, une lecture minimum ne pourra pas être obtenue. En cas de condition de surcharge, ou si une lecture minimum ne peut pas être obtenue (moins de 20%) avec la sonde hors de l'échantillon, vérifier l'appareil sans sonde pour déterminer le composant pouvant être défectueux. Si une lecture minimum est obtenue avec le convertisseur sans sonde, la sonde est défectueuse et doit être remplacée.
Une sonde mal fixée engendre généralement un bruit perçant intense.
En cas de condition de surcharge, se reporter au chapitre III.

Immerger la microsonde à moitié dans l'échantillon. Si la sonde est immergée à une profondeur insuffisante, de l'air sera injecté dans l'échantillon, ce qui le fera mousser. L'amplitude nécessaire étant dépendante de l'application et fonction du volume et de la composition de l'échantillon, nous conseillons d'optimiser l'amplitude empiriquement pendant le traitement de l'échantillon.

PULSEUR MANUEL : en inhibant l'accumulation de chaleur dans l'échantillon, la fonction de pulsation permet un traitement à haute intensité en toute sécurité des échantillons thermosensibles. De plus, les pulsations améliorent le traitement en permettant au produit de revenir sous la sonde après chaque décharge.

VISUALISER : la fonction REVIEW (visualiser) met à la disposition de l'utilisateur une "fenêtre" ouvrant sur le processus en affichant différents paramètres de fonctionnement sans interrompre le processus. Appuyer plusieurs fois sur la touche ENTER/REVIEW (entrer/visualiser) pendant le traitement pour afficher à la suite les informations suivantes.

a) Amplitude choisie :
   par ex. Amplitude 40%
b) Puissance en watts et quantité d'énergie accumulée en JOULES délivrées à la sonde.

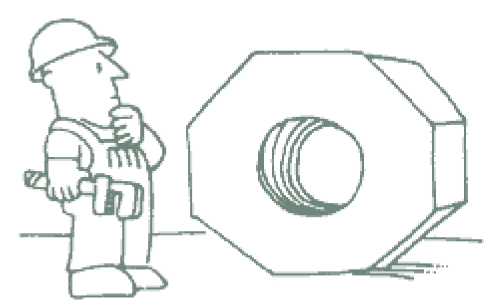
REMARQUE

La quantité d'énergie affichée correspond à un cycle uniquement. L'initialisation d'un nouveau cycle remet l'affichage à zéro.

IMPORTANT

Il est essentiel d'apporter un soin particulier à la sonde pour assurer un fonctionnement fiable. Une cavitation intense entraînera après une période prolongée une érosion de la pointe, et provoquera une baisse de puissance sans que cela soit visible sur l'indicateur de puissance. Plus la pointe est lisse et propre, plus grande sera la puissance transmise à l'échantillon. Une érosion de la pointe de la sonde accélère le processus d'érosion. Nous conseillons pour cette raison d'examiner la pointe après 5 ou 6 heures d'utilisation, et si nécessaire de la polir délicatement avec de la toile émeri ou avec une meule. La sonde étant syntonisée pour vibrer à une fréquence spécifique, il est très important d'éliminer uniquement la surface contaminée. Cette procédure peut être répétée tant que l'indicateur de puissance indique moins de 10 watts lorsque la sonde est hors de l'échantillon, l'AMPLITUDE étant réglée sur 100. Si l'indicateur de puissance indique plus de 10 watts, remplacer la sonde ou l'embout amovible par une nouvelle.

CHAPITRE III – MAINTENANCE



Ce sonificateur a été conçu pour assurer une fiabilité et une sécurité d'utilisation pendant de nombreuses années. Cependant, du fait de la défaillance d'un composant ou d'une mauvaise utilisation, il est possible qu'il ne fonctionne pas comme il devrait, qu'il se coupe suite à une surcharge ou qu'il s'arrête complètement de fonctionner. Les causes les plus probables de dysfonctionnement sont décrites ci-dessous et doivent être vérifiées.

- L'appareil est connecté à une prise de courant délivrant une tension différente de celle requise. Voir *Alimentation électrique.*
- La sonde et/ou la microsonde n'est pas fixée correctement.
- Si la sonde est équipée d'une pointe amovible, la pointe n'est pas correctement fixée, ou la sonde a été utilisée avec des échantillons contenant des solvants ou des liquides à faible tension de surface.
- Un (plusieurs) fusible(s) a (ont) claqué. Si un fusible a claqué, procéder de la façon suivante :
    1. Mettre l'appareil hors tension en appuyant sur la touche O , et déconnecter le cordon d'alimentation de la prise de courant.
    2. Ouvrir le couvercle du support de fusibles à l'aide d'un petit tournevis, et extraire le support de fusibles de son logement.
    3. Remplacer le(s) fusible(s).
    4. Reconnecter le cordon d'alimentation dans la prise, appuyer sur la touche | et régler l'amplitude sur 100. La sonde étant à l'air libre (hors de l'échantillon), l'indicateur de puissance doit indiquer moins de 10 watts. Si la lecture dépasse 10 watts, appuyer sur la touche O , et déconnecter la sonde du convertisseur.
    5. Appuyer sur la touche | . Si l'indicateur de puissance indique moins de 10 watts, la sonde est défaillante ou déréglée suite à une érosion excessive et doit être remplacée ; si l'indicateur de puissance indique plus de 10 watts, le convertisseur ou l'alimentation est défaillant et le sonificateur complet doit être retourné pour réparation.

CONDITION DE SURCHARGE

Si le sonificateur s'arrête de fonctionner, et que l'indication OVERLOAD (surcharge) apparaît à l'écran, vérifier les causes possibles décrites dans le paragraphe précédent, puis appuyer sur la touche O pour éteindre l'appareil, et sur la touche | pour le remettre sous tension.

RETOUR DE L'APPAREIL

Nous conseillons de retourner à l'usine un appareil nécessitant une réparation.

Afin de bénéficier d'une réparation rapide, contacter toujours l'usine avant de retourner un appareil. Préciser la date d'achat, le numéro du modèle et le numéro de série. Faire attention à emballer soigneusement l'appareil pour éviter tout dommage éventuel pendant le transport. L'appareil doit être adressé à l'attention du "Service Après Vente" avec les frais de port payés et l'expédition en retour indiquée.

Demander un *Numéro d'Autorisation de Retour* avant de retourner l'appareil.

IMPORTANT

JE CERTIFIE QUE LE SONIFICATEUR ET/OU LES ACCESSOIRES RETOURNÉS POUR RÉPARATION SONT EXEMPTS DE MATIÈRES RADIOACTIVES OU SUSCEPTIBLES DE PRÉSENTER UN DANGER BIOLOGIQUE, ET QU'ILS PEUVENT ÊTRE MANIPULÉS EN TOUTE SÉCURITÉ.

NE RETOURNER AUCUN APPAREIL SI CETTE CERTIFICATION NE PEUT PAS ÊTRE APPORTÉE.

CHAPITRE IV - CONSEILS ET TECHNIQUES D'UTILISATION

DESINTEGRATION DES CELLULES

La désintégration de cellules est une étape importante de l'extraction et de la préparation des produits intracellulaires. Du stade de la recherche jusqu'à la production, de nombreux domaines de la biotechnologie, en particulier les technologies de recombinaison, nécessitent l'utilisation des ultrasons pour la désintégration cellulaire. Bien que certains produits biologiques soient sécrétés par la cellule ou relâchés pendant l'autolyse, de nombreux autres nécessitent une sonification pour libérer le matériel intracellulaire. La désintégration cellulaire permet plus particulièrement d'obtenir le produit désiré présent à l'intérieur de la cellule ; c'est la paroi cellulaire qui doit être rompue pour permettre l'extraction du contenu cellulaire.

Les organismes unicellulaires (micro-organismes) sont constitués d'une paroi cellulaire externe semi-perméable, solide et rigide, entourant la membrane protoplasmique (cytoplasmique) et le cytoplasme. Le cytoplasme est constitué d'acides nucléiques, protéines, glucides, lipides, enzymes, ions inorganiques, vitamines, pigments, inclusions, et d'environ 80% d'eau. Pour isoler et extraire ces substances de l'intérieur de la cellule, il est nécessaire de briser la paroi cellulaire et la membrane protoplasmique. Dans certains cas, la cellule peut sécréter la substance désirée sans assistance, mais dans la plupart des cas, les cellules doivent être lysées et soniquées pour que ces substances soient libérées. La destruction des membranes cellulaires et la libération du contenu représentent un défi certain. Le processus doit être rapide et approfondi pour optimiser le rendement en protéine. L'énergie appliquée devant être suffisamment importante pour briser les membranes ou parois cellulaires, mais rester suffisamment douce pour éviter d'endommager physiquement ou chimiquement le contenu cellulaire, le Vibra-Cell avec sa capacité à faire varier l'intensité est idéal pour cette application.

Le niveau d'intensité devant être utilisé dépend de l'application. Par exemple, une intensité élevée peut être conseillée pour briser les cellules, mais ne doit jamais être utilisée lorsque la libération de composants intracellulaires n'est pas désirée, comme par exemple l'isolement d'organelles.

La possibilité de contrôler l'amplitude au niveau de la pointe de la sonde est une condition nécessaire à l'optimisation du processus. Et comme chaque application nécessite ses propres paramètres de traitement, du fait des variations de volume et de composition, l'amplitude optimale ne peut être déterminée qu'empiriquement. Pour le traitement d'un nouvel échantillon, nous conseillons de régler d'abord l'amplitude sur 50% (30% avec une microsonde) puis d'augmenter ou de diminuer selon les besoins.

Les levures, les bactéries Gram Positives et dans une moindre mesure les bactéries Gram Négatives possèdent une paroi cellulaire beaucoup plus solide que les cellules animales, et nécessitent une puissance relativement élevée pour désintégrer les cellules.

Les bactéries Gram Négatives nécessitent généralement 10 à 15 minutes de traitement, alors que les staphylocoques nécessitent 20 à 30 minutes.

Les micro-organismes sont très différents dans leur sensibilité à la désintégration ultrasonique. Par exemple, les plus facilement désintégrés sont ceux en forme de bâtonnet (bacilles), alors que les organismes sphériques (coques) sont beaucoup plus résistants. Le groupe des mycobactéries, auquel appartient le micro-organisme responsable de la tuberculose, est particulièrement difficile à désintégrer. Généralement, les cellules animales sont plus facilement désintégrées que les cellules végétales, et les globules rouges sont plus facilement désintégrés que les cellules musculaires, car ces cellules ne possèdent pas de paroi cellulaire protectrice.

La désintégration cellulaire constitue la première étape pour l'extraction des ARN et une des étapes les plus cruciales concernant le rendement et la qualité des ARN isolés. Généralement, la désintégration cellulaire doit être rapide et approfondie. Une désintégration lente, par exemple en plaçant les cellules ou les tissus dans une solution de lyse à l'isothiocyanate de guanidine (GITC) pendant une période prolongée avant la sonification, peut entraîner une dégradation des ARN par libération interne des ARNases. Ceci pose particulièrement un problème pour le traitement de tissus contenant beaucoup d'ARNases tels que la rate ou le pancréas.

La désintégration de tissus congelés nécessite plus de temps et d'efforts que le traitement de tissus frais, mais la congélation des échantillons est parfois nécessaire. Les échantillons sont généralement congelés quand 1) ils sont récupérés sur une période prolongée et ne peuvent par conséquent pas être traités simultanément, 2) il y a de nombreux échantillons, 3) les échantillons sont prélevés sur le terrain, ou 4) le traitement mécanique des échantillons frais est insuffisant pour une désintégration approfondie. Un mortier et un pilon ou un sac et un marteau sont généralement utilisés lorsque le produit de départ est congelé. L'ARN reste intact dans les tissus pendant une journée à 37ºC, une semaine à 25ºC et un mois à 4ºC, et indéfiniment à des températures inférieures à zéro.

Avec le traitement par ultrasons, l'agitation moléculaire dans l'échantillon provoque généralement une élévation de température, surtout avec de petits volumes. Les températures élevées réduisant la cavitation, la température de l'échantillon doit être conservée aussi basse que possible - de préférence juste au-dessus de son point de congélation. Ceci peut être réalisé en immergeant le récipient contenant l'échantillon dans un bain de glace et d'eau salée. L'élévation de température peut également être réduite en utilisant le pulseur.

La désintégration des cellules peut être améliorée en augmentant la pression hydrostatique (habituellement 1 à 4 bar [15 - 60 psi]) et la viscosité. Pour les micro-organismes, l'addition de billes de verre d'une taille comprise entre 0,5 et 1 mm favorise la désintégration des cellules. Les billes sont pratiquement indispensables pour la désintégration de spores ou de levures. Le bon dosage est de un volume de billes pour deux volumes de liquide. Les billes de verre sont disponibles chez Cataphote, Inc. P.O. Box 2369, Jackson, Mississippi 39225-2369 USA, téléphone (800) 221-2574 ou (601)

939-4612, fax (601) 932-5339, Jayco Inc. 675 Rahway Ave., Union NJ 07083 USA, téléphone (908) 688-3600, fax (908) 688-6060 ou Sigmund Lindner GmbH. P.O. Box 29. D-95483 Warmensteinach, Allemagne. Téléphone (49) 0 92 77 9 94 10, fax (49) 0 92 77 9 94 99.

Pour le traitement de cellules difficiles, telles que les levures, un pré-traitement par une enzyme peut être bénéfique. Les digestions au lysozyme, hyaluronidase, glycosidase, glucalase, lyticase, zymolase et lysostaphine font partie des méthodes enzymatiques les plus fréquemment utilisées avec les levures et le lysozyme avec les bactéries. Un traitement enzymatique est généralement suivi par une sonification dans un tampon de lyse GITC. La collagénase peut être utilisée avec le collagène, la lysostaphine avec les staphylocoques, et la trypsine hyaluronidase avec le foie et le rein.

Si l'utilisation d'enzyme n'est pas possible, les procédures suivantes peuvent être essayées : congélation de l'échantillon à -70°C pendant la nuit, puis décongélation dans l'eau immédiatement avant la sonification.

La plupart des tissus animaux peuvent être traités frais (non congelés). Il est important de garder les tissus frais au froid et de les traiter rapidement (dans les 30 minutes) après dissection. Si l'utilisateur travaille sur des tissus frais, les cellules doivent être soniquées immédiatement au moment de l'ajout de la solution de lyse GITC. Ceci peut se faire en versant la solution de lyse dans le tube, en ajoutant le tissus et en soniquant immédiatement. Ne jamais laisser reposer les tissus dans la solution de lyse sans les désintégrer. Les échantillons importants de tissus durs doivent d'abord être traités dans un mixeur ou un homogénéisateur mécanique.

Les tissus animaux ayant été congelés après prélèvement doivent être désintégrés en les broyant dans l'azote liquide avec un mortier et un pilon. Pendant cette procédure, il est important de conserver le matériel et les tissus à des températures cryogéniques. Les tissus doivent être secs et poudreux après broyage. Le broyage doit être suivi par une sonification approfondie dans du tampon de lyse GITC. Cette façon de traiter les tissus congelés est longue et fastidieuse, mais efficace.

Les cellules de culture sont normalement faciles à désintégrer. Les cellules cultivées en suspension sont récupérées par centrifugation, rincées au PBS pour éliminer le milieu de culture, puis lysées en les soniquant dans du tampon de lyse GITC. Placer le récipient sur la glace pendant le lavage et la lyse des cellules pour améliorer la protection des ARN contre les ARNases endogènes libérées pendant le processus de désintégration.

Les tissus végétaux mous et frais peuvent souvent être désintégrés en les soniquant dans du tampon de lyse. Les autres tissus végétaux, comme les aiguilles de pin, doivent être broyées à sec, sans azote liquide. Certaines matières végétales dures de type bois nécessitent une congélation et un broyage dans l'azote liquide avant d'être traités par ultrasons. Les cultures de cellules végétales en suspension et les cals sont généralement soniqués dans un tampon de lyse en moins de 2 minutes. La diversité des plantes et tissus végétaux rend impossible des conseils uniques applicables à tous. Cependant, la plupart

des tissus végétaux contiennent généralement des polysaccharides et des poly-phénols pouvant co-précipiter avec l'ARN et inhiber les tests en aval. Le traitement d'un lysat de tissu végétal avec du polyvinylpyrrolidone (PVP) permet de faire précipiter ces composants problématiques pour les extraire du lysat avant d'effectuer la purification d'ARN réelle.

Chaque fois que cela est possible, les tissus doivent être coupés en tout petits morceaux pour permettre leur mouvement dans le liquide. Les tissus résistants comme la peau et les muscles doivent d'abord être liquéfiés dans un mixer ou un équivalent pendant environ 10 secondes, et transvasés dans un petit récipient pendant le traitement ultrasonique. Si l'utilisateur désire des particules sub-cellulaires intactes, régler la commande d'amplitude assez bas et augmenter le temps de traitement.

Les levures peuvent être extrêmement difficiles à désintégrer car leur paroi cellulaire peut former des capsules ou des spores presque indestructibles. Pour traiter des levures, soniquer dans un tube contenant l'échantillon, du tampon de lyse à base de guanidine et des petites billes de verre (0,5 – 1 mm). Un pré-traitement à la zymolase, glucalase et / ou lyticase pour donner des sphéroplastes pouvant être facilement lysés peut être utile.

Pour désintégrer les champignons filamenteux, gratter le mycélium dans un mortier froid, ajouter de l'azote liquide et broyer avec un pilon pour obtenir une poudre fine. La poudre peut ensuite être soigneusement soniquée dans du tampon de lyse pour la solubiliser complètement. Comme les champignons peuvent également être riches en polysaccharides, un pré-traitement au polyvinylpyrrolidone (PVP) peut être bénéfique.

Les bactéries, comme les plantes, sont extrêmement diverses ; par conséquent, il est difficile d'émettre une recommandation applicable à toutes les bactéries. Un traitement ultrasonique lysera la plupart des bactéries Gram Positives et Gram Négatives, y compris les mycobactéries. Bien qu'il soit conseillé d'utiliser des billes de verre et une solution de lyse, il est possible de lyser certaines bactéries Gram Négatives en les soniquant dans la solution de lyse sans billes. Les parois cellulaires des bactéries nécessitent une digestion plus rigoureuse et des temps de traitement plus longs. Les sphéroplastes sont ensuite lysés par sonification dans du tampon de lyse GITC.

Les désintégration de cellules trouvées dans les sols et les sédiments peut se faire de deux façons. Une technique isole les cellules bactériennes du reste avant d'isoler l'ARN. Ceci se fait en homogénéisant le sol humide dans un homogénéisateur mécanique suivi par une centrifugation à basse vitesse pour extraire la biomasse fongique et les débris du sol. Le surnageant est à nouveau centrifugé à une plus grande vitesse pour sédimenter les cellules bactériennes. Les cellules peuvent ensuite être lysées comme décrit précédemment pour les bactéries. D'autres techniques décrivent l'extraction d'ARN directement à partir du sol ou des sédiments. Par exemple, une méthode nécessite de mélanger le sol avec de la terre de diatomée et du tampon de lyse, puis de soniquer. L'échantillon est ensuite centrifugé pour retirer les débris solides.

Toujours insérer la sonde suffisamment profondément en dessous de la surface de l'échantillon pour éviter la formation d'aérosol ou de mousse, la mousse diminuant considérablement la cavitation. Un traitement à une puissance plus faible sans mousse est beaucoup plus efficace qu'un traitement à une puissance plus élevée avec mousse. La diminution de la puissance, l'augmentation de la durée du processus et l'abaissement de la température de l'échantillon empêchent généralement l'apparition d'aérosol et de mousse. Ne pas utiliser d'agent anti-moussant ou de surfactant.

Des radicaux libres se forment pendant la cavitation. Si on laisse ces radicaux libres s'accumuler, ceux-ci peuvent affecter de façon importante l'intégrité biologique de l'échantillon en réagissant avec les protéines, les polysaccharides ou les acides nucléiques. La formation de radicaux libres au cours de traitements de courte durée n'est normalement pas considérée comme un problème. Pour des traitements prolongés, il peut être bénéfique d'ajouter des fixateurs de radicaux libres comme le dioxyde de carbone, N_2O, la cystéine, la glutathione réduite, le dithiothréitol ou d'autres composés SH. La saturation de l'échantillon par une atmosphère protectrice d'hélium ou d'azote gazeux, ou l'ajout d'un petit bout de glace carbonique dans l'échantillon diminue souvent la formation de radicaux libres. Bien qu'il soit vrai qu'un gaz est nécessaire à une désintégration cellulaire efficace, il n'est pas nécessaire que la phase vapeur soit constituée d'oxygène ou d'air car n'importe quel gaz, à l'exception du dioxyde de carbone, marche aussi bien.

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour mesurer l'efficacité de la désintégration. Par exemple, un comptage visuel peut être fait sous microscope.
Pour une meilleure précision, il est possible d'effectuer un dosage des protéines. Cette procédure est largement reconnue comme étant une bonne méthode de mesure de la désintégration cellulaire en tenant compte de la quantité de protéine libérée après désintégration. Les cellules désintégrées sont ensuite testées et vérifiées en fonction de ce nombre pour obtenir le pourcentage de cassure.
Il existe plusieurs types de dosages des protéines. Un communément utilisé est la méthode de la réaction de Folin (dosage de Lowry), car il est comparativement simple et donne des résultats cohérents.
Cette méthode colorimétrique développe une sensibilité pour les protéines d'environ 8 µg / mL dans la solution dosée.
Ce dosage vire au bleu en présence de protéines suite à la réaction des ions cuivre dans la solution alcaline avec les protéines et la réduction du phosphomolybdate - acide phosphotungstique dans le réactif de Folin par les acides aminés aromatiques présents dans la protéine traitée.
La fraction protéique libérée, Rp, est calculée à l'aide de l'équation suivante et en multipliant le résultat par 100 :

$$Rp = \frac{Cf - Cb}{Ct - Cb}$$

Cf = Protéines libres
Ct = Protéines totales
Cb = Protéines de fond

Ceci donne le pourcentage de désintégration réelle, en tenant compte des niveaux de fond en protéines avant la désintégration.

La plus grande concentration d'énergie se situant à proximité immédiate de la sonde, il est impératif de garder l'échantillon aussi près que possible de la pointe. Les liquides sont facilement traités car les cellules libres circulent sans cesse sous la sonde. Les matériaux solides, cependant, ont tendance à être repoussés par les ultrasons, et doivent être traités dans des récipients suffisamment larges pour contenir la sonde, mais également suffisamment petits pour restreindre le mouvement de l'échantillon. Pour les petits échantillons, nous conseillons d'utiliser des tubes à essai de forme conique.

Le contact de la sonde avec le récipient diminue la puissance délivrée, et entraîne la migration de toutes petites particules de verre dans le liquide. Même si ces particules de verre n'affectent pas la composition chimique de l'échantillon, elles formeront une fine couche grise lors de la centrifugation. Si la sonde doit entrer en contact avec un échantillon solide, utiliser un tube de centrifugation en acier inoxydable standard de 20 mm (¾") de diamètre coupé à une longueur de 70 mm (3"). Ne pas utiliser de tube en verre. Les micropointes ne doivent jamais entrer en contact avec autre chose que le liquide, car la tension résultante au point de contact avec une surface dure briserait la micropointe. Même si les sondes plus grandes ne se brisent pas si elles entrent en contact avec un récipient en verre, elles peuvent cependant briser le récipient.

Avant chaque expérience, placer la pointe de la sonde dans l'eau ou l'alcool et mettre l'alimentation sous tension pendant quelques secondes pour retirer tout résidu. En cas de risque de contamination par une utilisation précédente, nettoyer la sonde avec une solution de Virkon à 20% et rincer à l'eau distillée. Pour les application cruciales, il est possible d'autoclaver les sondes.

Pour éviter la perte d'échantillon pouvant s'accrocher à la paroi du tube à essai, enduire le tube de silicone de la façon suivante : laver et sécher soigneusement le tube à essai, enduire de silicone puis sécher à l'air. Le “Sigmacote” fabriqué par Sigma Chemical Co., 3050 Spruce Street, St. Louis, Missouri 63103, USA, téléphone (314) 771-5765, convient parfaitement à cette procédure.

Une viscosité et une concentration élevées sont problématiques. 2000 cp et une concentration de 15% en poids constituent les limites maximales. Les ondes soniques des ultrasons se propageant à travers l'échantillon, si l'échantillon est trop épais pour être versé ou circuler facilement, il est trop épais et ne peut pas être traité par ultrasons.

Utiliser une chambre Cup-Horn pour le traitement d'échantillons pathogènes, radioactifs et présentant un risque biologique, en isolement complet sans introduction de sonde. Les tubes plastiques ayant tendance à absorber les vibrations, il est préférable, quand cela est possible, d'utiliser des tubes en acier inoxydable ou en verre pour travailler avec une chambre Cup-Horn. Pour activer le traitement, ajouter des billes de verre à l'échantillon. Si l'utilisateur le désire, il peut ajouter de la glace pilée dans l'eau à l'intérieur de la chambre Cup-Horn pour optimiser le refroidissement. Le traitement d'échantillons dans une chambre Cup-Horn prend généralement 4 fois plus de temps qu'avec la méthode directe par introduction de sonde.